

## 초임계이산화탄소에 의한 어류조직 중 유기염소계 농약의 추출수율

임상빈 · 좌미경 · 강순배\*

제주대학교 식품공학과, \*제주도 보건환경연구원

### Extraction Efficiencies of Organochlorine Pesticides Spiked in Fish Tissues by Supercritical Carbon Dioxide

Sangbin Lim, Mi-Kyung Jwa and Soon-Bae Kang\*

Department of Food Science and Technology, Cheju National University

\*Institute of Health and Environment, Cheju-do Provincial Government

#### Abstract

A simple, fast, inexpensive method has been developed to extract organochlorine pesticides spiked in fish tissues by supercritical carbon dioxide. Following static supercritical fluid extraction (SFE), pesticides are collected by rapidly depressurizing the carbon dioxide effluent through a 0.79 mm i.d. metering valve into a capped screw-top tube. Percent recovery of standard organochlorine pesticides mixture (SOPM) increased with the decrease of the extraction temperature at 103 bar. Maximum average percent recovery of SOPM was 98% at 40°C/172 bar. Average recoveries of SOPM spiked in Pacific cod, flatfish and common squid were 85, 74 and 83%, respectively at 40°C/172 bar. Application of supercritical carbon dioxide extraction offers an attractive alternative to the use of organic solvents for extraction of organochlorine pesticides from fish tissues.

Key words: supercritical carbon dioxide extraction, organochlorine pesticide residues, fish tissues

#### 서 론

잔류농약 중 할로겐 화합물은 독성이 강하며 식품이나 토양 중에 장기간 분해되지 않고 잔류되어 있기 때문에 이들 물질을 분석하는 방법에 대한 연구가 끊임없이 이루어지고 있다<sup>(1,2)</sup>. 일반적으로 식품 중의 잔류농약을 분석하는 과정은 유기용매에 의한 추출, column chromatography에 의한 정제, GC에 의한 분석으로 이루어져 있는데, 추출과 정제를 위한 유기용매의 선택은 추출효율이 높고 방해물질의 동시 추출을 최소화할 수 있는지 여부에 달려 있는데, 이의 결점은 추출, 정제에 많은 시간과 비용이 소요되며, 폐유기용매에 의한 환경오염이다. 따라서 이러한 문제를 해결하기 위하여서는 새로운 분석방법의 개발이 시급한 실정이다<sup>(3)</sup>.

초임계유체 추출법은 미국, 프랑스 및 독일 등 외국의 식품 및 화학공업 분야에서 관심을 모으고 있는 추출, 분리기술의 하나이다. 초임계유체란 기체 고유의

임계점 이상의 압력과 온도에서 기체상과 유사한 확산계수, 점도 등의 전달물성을 가지고, 액체와 비슷한 밀도를 가지는 양면성 상태하의 유체를 말한다. 초임계유체로서 식품공업에서는 탄산가스를 많이 사용하는데 무독성이고 반응성이 약하며, 가격이 저렴하고 화염성이 없으며, 임계온도와 압력은 31°C와 73 bar이다. 지금까지 초임계유체에 의한 무카페인 커피의 제조 및 맥주 쓴맛 성분인 호프 추출이 산업적으로 실용화되어 있다<sup>(4,5)</sup>.

초임계유체에 의한 용질의 용해능력은 유체의 밀도 증가에 따라 증가하는데, 초임계유체의 밀도를 증가시키기 위해서는 추출압력을 증가시켜야 한다. 예를 들면 콩이나 기타 유지함유 종자로부터 지방을 추출하기 위해서는 추출압력을 500 bar 이상 증가시켜야 한다. 그런데 분석을 목적으로 초임계유체 추출공정을 이용할 때는 훨씬 단순한 시스템으로도 가능하다. 미량 함유되어 있는 분석물질을 추출할 경우에는 낮은 압력에서도 용해도 한계에 이르지 않기 때문에 잔류농약과 같이 ppm 수준으로 미량 함유되어 있는 물질은 낮은 압력 범위에서도 상당히 높은 추출 수율을 얻을 수 있을 것으로 기대된다<sup>(6,11)</sup>.

Corresponding author: Sangbin Lim, Department of Food Science and Technology, Cheju National University, Cheju 690-756, Korea

추출공정을 단순화하기 위하여 초임계 이산화탄소를 연속적으로 유통시키지 않는 정적추출(static extraction) 방법을 택할 수 있는 바, 일단 추출조에 초임계 이산화탄소를 주입한 후 펌프의 작동을 중단시켜 일정압력과 온도에서 일정시간 동안 추출한 후 감압하여 추출물을 회수하는데, 추출은 이산화탄소의 초임계점보다 높은 온도와 압력에서 행한다. 이 단순공정은 미량으로 함유되어 있는 분석물질의 초임계 이산화탄소에 대한 용해도와 확산계수가 높기때문에 가능하다<sup>(1,12,13)</sup>.

최근 초임계유체 추출방법을 분석기술로 이용하려는 관심이 증가하고 있는데, 그 중 주요 관심분야는 잔류농약 분석이다<sup>(14)</sup>. McNally와 Wheeler<sup>(14,15)</sup>는 초임계유체 추출법을 토양, 식물, 세포배양액 중의 sulfonyleureas 분석에 적용하였으며, Engelhardt와 Gross<sup>(16)</sup>는 초임계유체 추출법과 크로마토그래피법을 토양중의 lindane, aldrin, DDT를 분석하는데 적용하였다. Schafer와 Baumann<sup>(11,17)</sup>은 초임계 이산화탄소에 대한 잔류농약의 용해도를 측정하였고, Lopez-Avila 등<sup>(18)</sup>은 초임계 이산화탄소와 보조용매로서 아세톤을 사용하여 모래로부터 17종의 유기염소계 잔류농약과 25종의 유기인계 잔류농약을 분석하였다. 최근 미국 환경보호청에서도 토양 중의 총 석유탄화수소를 측정하는 방법으로 초임계유체 추출법을 채택하였다<sup>(19)</sup>.

최근 식품공업의 발달과 소득증대에 의한 식생활의 향상은 국민들로부터 영양의 균형, 안전식품의 섭취 등 많은 욕구가 분출되어 있는 실정이므로 식품의 안전성을 확보한다는 것은 식품위생상 가장 중요한 과제라 할 수 있다. 식품의 안전성을 위협하는 요소로는 미생물 오염, 화학물질 오염, 환경오염 등이 있다. 그 중 화학물질의 오염은 비소, 카드뮴, 납, 수은, 농약, 첨가물, 니트로스아민에 의하는데, 이런 오염물질로 인한 식품위해를 최소화하기 위하여 각 나라마다 오염물질 허용한계를 정하는데 많은 노력을 기울여 오고 있다<sup>(20)</sup>.

최근에 수산물의 소비증대로 인하여 수산물의 수입 및 국내유통이 증대하고 있는 실정이다. 수산물은 독성물질을 체내 축적하는 능력이 크며, 직접 생식으로 섭취되는 경우가 많으므로 잔류농약에 대한 검사를 소홀히 해서는 안된다. 특히 오징어와 대구는 1994년도 수입량이 각각 44,116 M/T, 22,548 M/T으로 수입 어류 중 가장 많으며, 넙치(광어)는 제주산 활어로 국내 유통량이 가장 많은 편이다.

본 연구의 목적은 초임계유체를 이용하여 분석하고자 하는 물질을 간단하고, 신속하며, 저렴하게 추출,

정제하는 방법을 개발하는데 있다. 이를 위하여 10종의 유기염소계 농약을 ppm 수준의 농도로 유기용매와 어류조직에 첨가하여 초임계 이산화탄소를 이용하여 추출온도 및 압력 등 추출조건을 달리하여 추출 수율을 측정하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

대구(*Gadus macrocephalus*), 넙치(일명 광어) (*Paralichthys olivaceus*), 오징어(*Todarodes pacificus*)는 제주시내 시장에서 구입하여 가식부만 분리한 후 Waring blender로 갈아서 냉동고에 보관하면서 시료로 사용하였다. 어류조직에 첨가한 유기염소계 농약 표준품으로서  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ -BHC, p,p'-DDD, DDE, DDT, aldrin, dieldrin은 Dr. Ehrenstorfer GmbH 제품을, endrin은 WAKO PURE Chemical Ind., Ltd 제품을 구입하여 사용하였다. 그 외 hexane, anhydrous sodium sulfate (입자분포: >355  $\mu$ m가 15%, 150~355  $\mu$ m가 65%, <150  $\mu$ m가 20%인 입자형) 등은 WAKO PURE Chemical Ind., Ltd 제품을 구입하여 사용하였다.

### 초임계유체 추출

본 실험에 사용한 초임계유체 추출장치는 본 실험실에서 제작하였으며, 최대 압력이 414 bar까지 사용 가능한 연속 유통형이다(Fig. 1). 먼저 60 ml의 추출칼람에 일정량의 시료를 주입하였다. 탄산가스는 실린더(TK)로부터 check valve(CV)를 거쳐 고압 피스톤 펌프(HPP)에 의하여 가압되었다. 이 때 탄산가스 주입부의 공동화 현상을 방지하기 위하여 냉각조(HE)

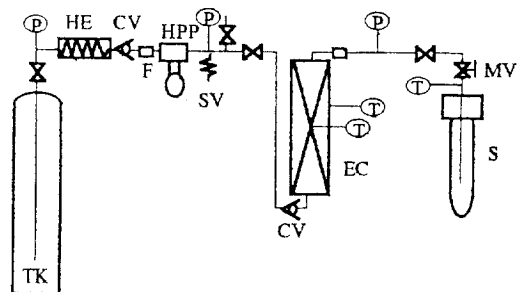


Fig. 1. Schematic diagram of supercritical fluid extraction system (CV: check valve, EC: extraction column, F: filter, HE: heat exchanger, HPP: high pressure pump, MV: metering valve, P: pressure gauge, S: separator, SV: safety valve, T: temperature indicator, TK: carbon dioxide tank)

를 설치하여 초임계 이산화탄소의 기화를 방지하였다. 가압된 초임계 이산화탄소는 압력계 (P)에 의해 압력이 측정된 후 추출칼람 (EC)으로 이동되었다. 추출칼람의 온도는 비례형 온도조절기로 조절되었으며, 추출칼람 중앙에 설치된 열전대 온도계 (T)에 의하여 온도가 측정되었다. 추출공정을 단순화시키기 위하여 일단 추출칼람에 초임계 이산화탄소를 주입하여 일정 압력에 이르면 펌프의 작동을 중단시켜 정적 추출(초임계 이산화탄소의 흐름이 없음)을 하였으며, 추출공정은 이산화탄소의 초임계점보다 높은 온도와 압력에서 행하였다. Nam 등<sup>(1)</sup>이 어류조직에 유기염소계 농약을 첨가하여 50°C/143 bar에서 한 시간동안 추출하여 90.8~104.0%의 첨가회수율을 얻었다는 보고에 따라 본 실험에서도 추출시간을 한 시간으로 고정시키고 추출온도와 추출압력을 달리하여 추출한 후 초임계유체 추출물을 0.79 mm의 내경을 갖는 metering valve (MV)를 통하여 고체 이산화탄소가 들어 있는 한개의 구멍(내경: 7.5 mm)이 뚫린 뚜껑을 가진 시험관 (S)(2×19.5 cm)속에서 3분이내로 신속히 감압한 후 10 ml의 헥산을 즉시 가하여 용해한 후 GC로 분석하였다. 이때 exit tube는 시험관의 16 cm 깊이에 위치하였다.

### 첨가회수율

먼저 유기염소계 표준용액 자체의 추출회수율을 측정하였다. 즉 잔류농약 표준용액( $\alpha$ -BHC 20.7 ppm,  $\beta$ -BHC 24.3 ppm,  $\delta$ -BHC 25.5 ppm,  $\gamma$ -BHC 21.8 ppm, aldrin 25.4 ppm, dieldrin 23.0 ppm, endrin 26.6 ppm, p,p'-DDD 22.5 ppm, p,p'-DDE 22.9 ppm, p,p'-DDT 23.7 ppm) 1 ml를 무수황산나트륨 12 g과 100 ml의 비이커에서 혼합한 후 추출칼람에 충전시키고, 다시 무수황산나트륨 3 g으로 비이커를 씻어 추출칼람에 충전한 후 일정온도, 압력에서 초임계 이산화탄소로 추출하여 GC 분석을 한 후 회수율을 측정하였다.

다음으로 유기염소계 표준용액을 수분함량이 각각 79.2, 77.4, 75.4%인 대구, 납치, 오징어 시료에 첨가하여 첨가회수율을 측정하였다. 즉 위 표준용액 1 ml를 생체시료 2 g에 가하여 혼합한 후 무수황산나트륨 30 g을 가하여 100 ml의 비이커에서 혼합하여 추출칼람에 충전시키고, 다시 무수황산나트륨 10 g으로 비이커를 씻어 추출칼람에 충전한 후 일정온도, 압력에서 초임계 이산화탄소로 추출하여 GC 분석을 한 후 생체시료에 대한 첨가회수율을 측정하였다. 모든 실험은 2~3회 반복 시행하였는데, 이때 상대표준편차는 p,p'-DDD가 3.87%로 가장 낮았고 p,p'-DDT가 14.7%로 가

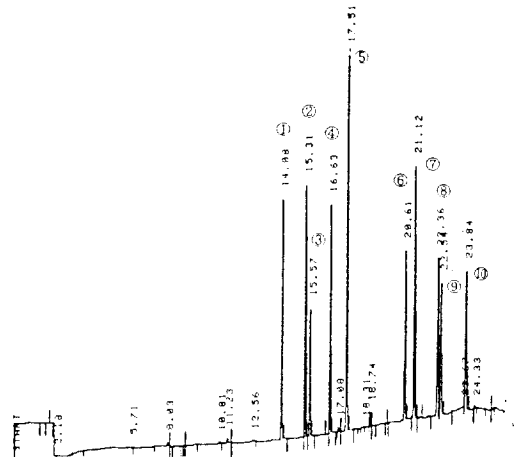


Fig. 2. Chromatography of standard organochlorine pesticides mixture (1:  $\alpha$ -BHC, 2:  $\gamma$ -BHC, 3:  $\beta$ -BHC, 4:  $\delta$ -BHC, 5: aldrin, 6: p,p'-DDD, 7: dieldrin, 8: endrin, 9: p,p'-DDE, 10: p,p'-DDT)

장 높았으며 10개 성분에 대한 평균상대표준편차는 6.21%였다.

### 잔류농약 분석

추출물 중의 잔류농약 분석은 GC (Hewlett-Packard 5890 series II)에 의하였으며, column은 SPB-608 capillary (30 m×0.25 mm i.d., Supelco)를 사용하였고, column 온도는 150°C에서 4분간 유지한 다음 8°C/min 속도로 290°C까지 온도를 높여 10분간 유지하였다. 검출기는 ECD를 사용하였고, 검출기 및 주입구의 온도는 300°C, 220°C로 유지하였다. 운반기체로서 질소가스는 split ratio를 1 : 100으로 주입하였다. 유기염소계 잔류농약 표준용액의 크로마토그램은 Fig. 2와 같다. 모든 분석은 2~3회 반복 시행하였다.

### 결과 및 고찰

초임계유체 추출법은 추출시간이 적게 소요되며, 추출용매로 유기용매 대신 무해하고 저렴한 탄산가스를 사용하기 때문에 시료로부터 분석대상이 되는 물질을 추출시 유기용매 추출법의 대응으로 이용될 수 있다<sup>(10,21)</sup>. 그러나 정량적인 결과를 얻기 위해서는 높은 추출수율이 요구되는데 초임계 이산화탄소의 용해도는 일반적으로 온도에 반비례하고 압력에 비례하기 때문에 추출수율을 높이기 위해서는 추출온도를 낮추거나 압력을 높여야 한다<sup>(25)</sup>.

한편 추출물이 많을 때나 수분함량이 많은 시료를

추출한 후 시료를 포집할 때 높은 압력에서 낮은 압력으로의 급격한 압력강하에 의한 냉각효과에 의하여 exit tube (일명 restrictor)가 막히는 문제를 초래하게 된다. 이를 방지하기 위하여 tube를 가열하거나<sup>(13,22)</sup>, 시료에 흡습제를 첨가한다<sup>(22)</sup>. 그런데 tube를 가열하면 휘발성 성분의 손실을 초래하게 되므로, 이를 방지하려면 수분이 함유되어 있는 시료를 그 자체 그대로 추출하여야 하는데, Hopper and King<sup>(22)</sup>은 흡습제로서 pelletized diatomaceous earth를 수분을 많이 함유하고 있는 시료에 혼합하여 추출하였다. 이렇게 함으로써 냉각현상에 의한 tube의 막힘을 방지할 수 있고 시료를 추출조에 분산시킬 수 있고, 시료중의 수분을 흡수함으로써 시료의 유동특성을 증가시켜 추출조에 충전이 용이하며, homogeneous permeable extraction bed를 만들어 줌으로써 bed내의 channeling을 최소화하여 추출을 효율적으로 행할 수 있는 장점이 있다.

따라서 본 연구에서도 추출 후 감압시 시료 중의 수분에 의한 exit tube의 막힘을 방지하고, 칼럼에 충전시 시료에 유동특성을 부여하기 위하여 시료를 흡습제인 입자상의 무수황산나트륨과 혼합하여 추출하였는데, 이때 필요한 무수황산나트륨의 양은 시료에 유동특성을 부여하기에 충분한 양으로 하였다.

#### 추출온도에 따른 유기염소계 농약 표준용액의 추출수율

초임계 이산화탄소의 용해도는 온도에 의존하므로 추출수율에 미치는 추출온도의 영향을 검토하기 위하여 유기염소계 농약 표준용액을 추출압력 103 bar에서 추출온도를 40, 50, 60°C로 달리하여 추출한 결과는 Table 1과 같다. 40, 50, 60°C에서의 평균 회수율은 각각 78.1, 73.5, 71.6%로 추출온도가 낮을수록 추출수율이 증가하였다. 이는 추출온도가 낮을수록 이산화탄소의 밀도가 증가하여 초임계 이산화탄소의 유기염소계 농약에 대한 용해도가 증가하였거나 또는 추출온도가 낮을수록 추출물의 온도가 낮아 감압팽창시 수기의 저온유지에 도움을 주는 것으로 인하여 추출물의 포집이 용이하기 때문인 것으로 추정된다. Miller 등<sup>(12)</sup>은 농약을 100°C에서보다 50°C에서 추출한 경우 회수율이 10% 이상 증가하였다고 보고하였다. 그 이유는 50°C에서 추출한 후 추출물의 포집시 급격한 압력강하로 인하여 수기의 온도가 -70°C까지 낮아졌고, 이 온도가 약 30초간 유지된 반면 추출온도가 100°C인 경우 이산화탄소의 감압팽창 후 수기의 온도는 초기에 -30°C에서 약 -5°C로 15초까지 유지되다가 급격히 상승하였기 때문이다. Smith 등<sup>(23)</sup>도 저온에서

**Table 1. Extraction efficiencies of organochlorine pesticides mixture with different extraction temperature at 103 bar**

Analyte	Percent recovery		
	40°C	50°C	60°C
$\alpha$ -BHC	79.5	78.9	86.2
$\gamma$ -BHC	79.2	82.1	84.0
$\beta$ -BHC	61.7	60.3	64.0
$\delta$ -BHC	75.3	67.6	66.6
Aldrin	81.6	80.0	81.5
p,p'-DDD	84.0	77.8	71.3
Dieldrin	83.2	75.6	69.9
Endrin	79.3	75.3	69.9
p,p'-DDE	83.8	73.8	68.6
p,p'-DDT	74.1	63.9	54.1
Average	78.1	73.5	71.6

시료를 추출한 후 감압시에는 분리조에 기체와 액체의 두 상이 공존하지만 그 이상의 추출온도에서는 감압하는 동안 기체와 같은 단일 상이 존재하기 때문에 손실이 많이 되는 것으로 추정하고 있다.

한편 개개의 유기염소계 농약에 대해서는 다른 양상의 첨가회수율을 보이고 있는데 이들은 제작기 다른 화학구조를 가지고 있어서 첨가회수율이 다른 이유를 분자량 또는 녹는점의 차이만으로는 설명이 불가능하며, 증기압 또는 유기용매에의 용해도에 대한 자료도 일부만 보고되고 있으며, Nam 등<sup>(1)</sup>도 이에 대한 고찰을 전혀 하지 않았다.

#### 추출압력에 따른 유기염소계 농약 표준용액의 추출수율

초임계 이산화탄소의 용해도는 압력에 의존하므로 추출수율에 미치는 추출압력의 영향을 검토하기 위하여 유기염소계 농약 표준용액을 추출온도 40°C에서 추출압력을 103, 172, 241 bar로 달리하여 추출한 결과는 Table 2와 같다.

추출압력 103 bar에서는 평균 회수율이 78.1%인 반면 172 bar에서는 98.3%로 증가하였다. 이는 추출압력이 증가함에 따라 이산화탄소의 밀도가 증가하여 초임계 이산화탄소의 유기염소계 농약에 대한 용해도가 증가한 것으로 추정된다. Nam 등<sup>(1)</sup>도 수종의 유기염소계 농약에 대하여 50°C에서 100, 122, 143 bar로 추출압력을 달리하여 추출한 결과 회수율은 압력 증가에 따라 증가하였으며, 122 bar 이상의 추출압력에서는 회수율이 91-102%였다고 보고하였다. 한편 추출압력을 241 bar로 증가시켰을 때는 평균 회수율이 88.9%로 감소하였는데 이는 높은 압력에서 추출 후

**Table 2. Extraction efficiencies of organochlorine pesticides mixture with different extraction pressure at 40°C**

Analyte	Percent recovery		
	103 bar	172 bar	241 bar
α-BHC	79.5	101.3	86.6
γ-BHC	79.2	98.5	88.1
β-BHC	61.7	88.8	71.3
δ-BHC	75.3	94.4	82.2
Aldrin	81.6	104.1	91.4
p,p'-DDD	84.0	104.2	97.2
Dieldrin	83.2	105.2	96.7
Endrin	79.3	103.1	98.4
p,p'-DDE	83.8	100.9	97.6
p,p'-DDT	74.1	83.4	80.2
Average	78.1	98.3	88.9

감압시 높은 압력강하로 인하여 포집효율이 저하되었기 때문인 것으로 추정된다. 따라서 초임계 이산화탄소에 의하여 유기염소계 잔류농약 표준용액의 최대 추출수율을 얻기 위한 추출 온도와 압력은 40°C와 172 bar였다.

#### 추출압력에 따른 어류조직 중 유기염소계 농약의 첨가회수율

유기염소계 잔류농약 표준용액의 최적 추출조건을 실제 시료인 어류조직으로부터 유기염소계 잔류농약 추출에의 적용 가능성을 검토하였다. 먼저 실제시료인 대구, 넙치, 오징어를 40°C/172 bar에서 추출하여 시료 중의 유기염소계 잔류농약 함유량을 측정할 결과 잔류농약이 전혀 검출되지 않았다. 본 연구는 어류조직으로부터 잔류농약의 추출을 위한 새로운 방법을 개발하기 위한 것이 목적이다. 따라서 잔류농약이 함유되어 있는 어류를 시료로 택하기보다는 잔류농약이 함유되어 있지 않은 어류에 기지의 표준용액을 첨가, 추출하여 첨가회수율을 측정하므로써 먼저 새로운 추출방법의 적용가능성을 검토하고, 이를 근거로 잔류농약이 함유되어 있는 시료를 검정하는 것이 바람직하여 잔류농약이 함유되어 있지 않은 어류를 시료로 사용하였다.

유기염소계 잔류농약이 함유되어 있지 않은 대구에 유기염소계 표준용액을 첨가한 후 유기염소계 잔류농약 표준용액의 최적 추출조건인 40°C/172 bar에서 추출한 후 첨가회수율을 측정할 결과는 Table 3과 같다. 첨가회수율은 평균 85.6%로 잔류농약 표준용액 자체의 회수율 98.3%에 비하여 저조하였다. 따라서 회수율을 증가시키기 위하여 추출온도 40°C에서 추출압력

**Table 3. Extraction efficiencies of organochlorine pesticides mixture spiked in Pacific cod with different extraction pressure at 40°C**

Analyte	Percent recovery		
	172 bar	241 bar	310 bar
α-BHC	82.9	73.4	70.3
γ-BHC	85.7	79.6	74.8
β-BHC	87.0	80.4	75.3
δ-BHC	87.2	81.4	75.1
Aldrin	82.0	73.1	69.0
p,p'-DDD	84.0	76.9	70.5
Dieldrin	85.4	77.7	72.2
Endrin	86.2	80.0	77.8
p,p'-DDE	87.9	79.4	77.4
p,p'-DDT	87.6	74.9	69.1
Average	85.6	77.6	73.1

을 172, 241, 310 bar로 증가시켜 유기염소계 표준용액을 첨가한 대구를 초임계 이산화탄소로 추출하였다. 추출압력 172, 241, 310 bar에서 평균 회수율은 각각 85.6, 77.6, 73.1%로 압력이 증가할수록 감소하였다. 추출압력이 높을수록 초임계 이산화탄소의 밀도가 증가하여 회수율이 증가할 것으로 기대되었으나 회수율이 감소하였는데, 이는 추출 후 추출물을 포집할 때 보다 높은 압력에서 추출한 경우 높은 압력강하로 인하여 metering valve의 병결로 인하여 포집시간의 증가로 인한 휘발손실이 주 원인으로 추정된다. 따라서 높은 회수율을 얻기 위해서는 최적 추출온도와 압력조건에서 포집시간을 최대한 단축시킬 필요가 있다. Miller 등<sup>(12)</sup>도 포집시간을 3, 10, 30초로 달리하여 포집한 경우의 회수율은 포집시간이 짧을수록 회수율이 높았으며, 포집시간이 길수록 회수율이 저조하였는데 이는 포집시간이 길수록 초기에 포집되었던 성분들이 재회발되어 손실이 일어나는 것으로 추정하였다. Nam and King<sup>(13)</sup>도 alachlor을 정적 추출시 높은 회수율을 얻기 위해서는 감압시간 즉 유출시간을 가능한 짧게 해야 한다고 보고하고 있다. McNally 등<sup>(14)</sup>은 다중 추출조를 이용하여 정적 추출을 한 후 추출된 분석물질을 급히 감압하여 추출물을 포집하는 방법으로 토양 중에 첨가한 phenylmethylurea pesticide의 회수율을 97.3% 얻었다.

전체적으로 첨가회수율이 낮은 이유는 감압 후 추출칼럼 후반부의 tube와 valve에 묻어 있을 가능성이 있는 잔류물을 유기용매로 세척하지 않았기 때문일 가능성도 있으나 포집시간, 포집방법 등이 보다 큰 원인일 것으로 추정되며, 이에 대한 자세한 검토가 필요하다.

**Table 4. Extraction efficiencies of organochlorine pesticides mixture spiked in Pacific cod, flatfish and common squid at 40°C/172 bar**

Analyte	Percent recovery		
	Pacific cod	Flatfish	Common squid
α-BHC	82.9	74.8	86.2
γ-BHC	85.7	74.5	84.8
β-BHC	87.0	77.0	84.5
δ-BHC	87.2	75.2	82.3
Aldrin	82.0	71.6	79.4
p,p'-DDD	84.0	72.5	83.5
Dieldrin	85.4	73.6	82.1
Endrin	86.2	72.6	82.4
p,p'-DDE	87.9	77.3	85.1
p,p'-DDT	87.6	75.4	80.5
Average	85.6	74.6	83.0

어류 종류에 따른 어류조직 중 유기염소계 농약의 첨가회수율

지금까지 대구에 적용하였던 추출조건을 낚치(광어), 오징어에 적용하여 첨가회수율을 측정된 결과는 Table 4와 같다. 대구, 낚치, 오징어의 경우 평균회수율이 각각 85.6, 74.6, 83.0%로 Table 2에서 보는 바와 같이 유기염소계 농약 표준용액 자체의 회수율 98.3%에 비하여 낮았다. 이는 추출대상인 유기염소계 농약 표준용액 자체에 비하여 어류조직에 농약 표준용액을 첨가하여 추출한 경우는 동량의 이산화탄소의 사용으로 말미암아 시료 중의 용해성분과 농약을 동시에 용해하기에는 이산화탄소의 양이 부족하기 때문인 것으로 추정된다.

낮은 평균회수율에 대한 또 다른 이유로는 물질전달 저항을 극복하기 위하여 추출시간을 길게하여야 할 것으로 추정되는데, Nam과 King<sup>(13)</sup>은 소간에 20~200 ppb의 alachlor을 첨가하여 100~500 bar에서 추출한 경우 외부 물질전달 저항을 줄임으로써 추출수율을 높이기 위하여 추출조를 60분동안 초음파처리하였다. Nam 등<sup>(14)</sup>도 어류조직에 유기염소계 농약을 첨가하여 50°C에서 한시간동안 100~143 bar의 압력에서 추출하여 80~100%의 회수율을 얻었다. 따라서 추출수율을 증가시키기 위해서는 추출조건 및 포집조건에 대한 보다 종합적인 검토가 이루어져야 한다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 본 연구에서 이용한 초임계유체 추출법은 정적추출법(static extraction)으로서 동적추출법(dynamic extraction)에 비하여 장치가 간단하여 저렴한 비용으로도 가능하며<sup>(25)</sup>, 기존의 유기용매 추출법에서의 유기용매 사용으로 인한 폐유기용매 처분문제, 화염성, 독성, 가격의 고가 문제를 해결

할 수 있고 기존의 유기용매에 의한 soxhlet 추출법은 16~24시간의 장기간의 추출시간이 소요되는데 반하여, 초임계유체 추출법은 약 2시간이 소요되므로<sup>(1)</sup> 추출 및 정제에 필요한 시간을 최소화할 수 있다. 따라서 초임계유체 추출법을 이용함으로써 식품 중의 잔류농약을 간단하고, 신속하고, 저렴하게 추출, 정제할 수 있다.

## 요 약

초임계유체를 이용하여 간단하고, 신속하고, 저렴하게 식품 중의 잔류농약을 추출, 정제하는 방법을 개발하기 위하여 10종의 유기염소계 농약에 대하여 ppm 수준의 농도에서 초임계 이산화탄소를 이용하여 추출 온도 및 압력 등 추출조건을 달리하여 추출수율을 측정하였다. 초임계 이산화탄소 추출에 의한 유기염소계 잔류농약 표준용액의 회수율은 103 bar에서 추출온도가 증가할수록 증가하였다. 유기염소계 잔류농약 표준용액의 최대 평균 회수율은 40°C/172 bar에서 98.3%였다. 대구, 낚치, 오징어에 첨가한 유기염소계 농약의 평균 첨가회수율은 40°C/172 bar에서 각각 85.6, 74.6, 83.0%였다.

## 감사의 글

본 연구는 '95년도 보건의료기술연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임.

## 문 헌

1. Nam, K.S., Kapila, S., Pieczonka, G., Clevenger, T. E., Yanders, A.F., Viswanath, D.S. and Mallu, B.: Supercritical extraction of hazardous chemicals from fish tissue. In *Proceedings of the Int'l Symp. on Supercrit. Fluids*, Perrut, M. (Ed.), Institute National Polytechnique de Lorraine, Lorraine, France, Tome 2, p.743 (1988)
2. Lebel, G.L. and Williams, D.T.: Determination of halogenated contaminants in human adipose tissue. *JAOAC*, **69**, 451 (1986)
3. France, J.E., King, J.W. and Snyder, J.M.: Supercritical fluid-cased clean-up technique for the separation of organochlorine pesticides from fats. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 1871 (1991)
4. Rizvi, S.S.H., Lim, S., Nikoopour, H., Singh, M. and Yu, Z.: Supercritical fluid processing of milk fat. In *Engineering and Food*, vol. 3, Spiess, W.E.L. and Schubert, H. (Ed.), Elsevier Applied Science, New York, P. 145 (1989)
5. Lim, S.: Performance characteristics of a continuous supercritical CO<sub>2</sub> separation system coupled with ad-

- sorption. *Ph. D. Thesis*, Cornell Univ., Ithaca, New York (1992)
6. Lim, S. and Rizvi, S.S.H.: Modification of milk fat by supercritical CO<sub>2</sub>. *Foods and Biotechnol.*, **2**, 64 (1993)
  7. Lim, S. and Rizvi, S.S.H.: Continuous cocurrent extraction of milk fat by supercritical CO<sub>2</sub>. *한국영양식량학회지*, **23**, 459 (1994)
  8. Lim, S. and Rizvi, S.S.H.: Selected physico-chemical properties of modified milk fat fractions by continuous supercritical CO<sub>2</sub> processing. *Foods and Biotechnol.*, **3**, 175 (1994)
  9. 임상빈, 김수현, 고영환, 오창경, 오명철, 고용구, 박제석 : 초임계이산화탄소에 의한 뜻과 알로에 추출물의 수율 및 항균활성. *한국식품과학회지*, **27**, 68 (1994)
  10. Hawthorne, S.B.: Analytical-scale supercritical fluid extraction. *Anal. Chem.*, **63**, 633A (1990)
  11. Schafer, K. and Baumann, W.: Solubility of some pesticides in supercritical CO<sub>2</sub>. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **332**, 122 (1988)
  12. Miller, D.J., Hawthorne, S.B. and McNally, M.E.P.: Solventless collection of analyte by rapid depressurization after static supercritical fluid extraction. *Anal. Chem.*, **65**, 1038 (1993)
  13. Nam, K.S. and King, J.W.: Supercritical fluid extraction and enzyme immunoassay for pesticide detection in meat products. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 1469 (1994)
  14. McNally, M.E.P. and Wheeler, J.R.: Increasing extraction efficiency in supercritical fluid extraction coupled with supercritical fluid chromatography for the separation of sulfonyleurea herbicides and their metabolites from complex matrices. *J. Chromatogr.*, **435**, 67 (1988)
  15. McNally, M.E.P. and Wheeler, J.R.: Increasing extraction efficiency in supercritical fluid extraction from complex materials: Predicting extraction efficiency of diuron and linuron in supercritical fluid chromatographic retention. *Chromatogr.*, **447**, 53 (1988)
  16. Engelhardt, H. and Gross, A.: Extraction of pesticides from soil with supercritical CO<sub>2</sub>. *J. High Resolut. Chromatog. and Chromatog. Commun.*, **11**, 726 (1988)
  17. Schafer, K. and Baumann, W.: Supercritical fluid extraction of pesticides. I. Extraction properties of selected pesticides in CO<sub>2</sub>. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **332**, 884 (1989)
  18. Lopez-Avila V., Becket, W.F. and Billets, S.: The why and how of supercritical fluid extraction and its application to environmental analysis. In *Proceedings of the 5th Annual Waste Testing and Quality Assurance Symp.*, U.S. EPA, Washington, DC, Vol. 2, 2-23-2-86 (1989)
  19. Lesnick, B.: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste, Announcement at the EPA SFE Workgroup meeting, Washington, DC, July 17 (1992)
  20. 백덕우 : 식품안전성에 관한 최근 동향. *한국영양식량학회지*, **19**, 457 (1990)
  21. King, J.W.: Fundamentals and applications of supercritical fluid extraction in chromatographic science. *J. Chromatogr. Sci.*, **27**, 335 (1989)
  22. Hopper, M.L. and King, J.W.: Enhanced supercritical fluid carbon dioxide extraction of pesticides from foods using pelletized diatomaceous earth. *JAOAC*, **74**, 661 (1991)
  23. Smith, R.D., Fulton, J.L., Peterson, R.C., Kopriva, A.J. and Wright, B.W.: Performance of capillary restrictors in supercritical fluid chromatography. *Anal. Chem.*, **58**, 2057 (1986)
  24. McNally, M.E.P., Deardorff, C.M. and Fahmy, T.M.: In *Supercritical Fluid Technology : Theoretical and Applied Approaches in Analytical Chemistry*, Bright, F.V., McNally, M.E.P. (Ed.), ACS Symp. Series 488, American Chemical Society, Washington, DC, Chap. 12 (1992)
  25. France, J.E. and King, J.W.: Supercritical fluid extraction/enzyme assay. *JAOAC*, **74**, 1013 (1991)

---

(1996년 1월 22일 접수)